

Title	内毒素血症時の骨髓、脾細胞および末梢白血球の組織因子活性(III 共同利用研究 2.研究成果)
Author(s)	平田, 陸正
Citation	霊長類研究所年報 (1988), 18: 60-61
Issue Date	1988-09-30
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2433/163817">http://hdl.handle.net/2433/163817</a>
Right	
Type	Departmental Bulletin Paper
Textversion	publisher

出虫卵の發育分化については30℃でArizono (1976)の方法に準じて濾紙培養法を行った。

結果：prepatent periodは2頭とも10日であり、他の糞線虫の固有宿主におけるそれとほぼ同じであった。虫卵排出初日(11病日)のA、BにおけるEPGはそれぞれ36と19で、Aは急激に増加して80病日頃より100病日位まで約20,000を保ち、Bは17病日から48病日まで約6,000、その後20日間位約10,000を保ち、A、B共に180病日では、1,000～2,000に減少した。EPDもEPGにほぼ平行して変動し最高値はA…278万、B…70万であった。排出虫卵の發育分化に関しては、自由生活世代雄成虫の割合は虫卵排出2日目(12病日)のA、Bそれぞれ24%、18%で、20病日頃にはA、B共に40%前後に達し、50病日頃より徐々に減少し、180病日頃にはA…10%前後、B…10～20%になった。血液血清学的検査では感染により白血球数増多と一過性の好酸球数増多を認め、免疫学的には感染2週目頃より抗体価の上昇を認めた。その他の検査では感染による著しい変化を認めなかった。

#### 霊長類好中球スーパーオキシド産生能への薬物の影響

鈴木幸雄(岡山大・歯)

非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)はヒト好中球の活性化を抑制する、そしてこの性質が抗炎症作用の一つと考えられている。しかしこの抑制作用は正常時の血液から得られる好中球に対するもので炎症時の好中球にどの程度の効果があるのか不明である。そこでヒトに系統発生学的に近いニホンザルを対照にして正常時と炎症時の好中球活性化に対するNSAIDの抑制効果を比較した。

〔方法〕好中球：全身性急性炎症状態にするためニホンザル、雄性、4年令にE. coliのLPSを1mg/kg静注、12時間後に血液をヘパリン存在下採血した。正常細胞は無処理のサルから得た。好中球はデキストランT-2000沈降、低張処理により分離した。分化度の未熟な杆状核球と成熟顆粒球をギムザ染色により分別計数した。スーパーオキシド( $O_2^-$ )産生：活性化はサイトカラシンB、5μg/mlとFMLP、 $10^{-6}$ Mを用いた。NSAIDはインドメタシン(IM)、スルフィンピ

ラゾン(SP)、フェニルブタゾン(PB)を用いた。

〔結果及び考察〕LPS投与により血中の成熟及び幼若好中球共に増加したが、好中球当たりの $O_2^-$ 産生能はほとんど変化しなかった。NSAIDの50%阻害濃度(μM)は正常時；IM(2.0)、SP(25)、PB(50)の順でヒトでの報告、SP>PB>IM(GAY et al, 1984)とは異なる。ヌプロテンカイネースC活性化剤TPAによる $O_2^-$ 産生はこれらの薬剤(～100μM)ではほとんど阻害されなかった。LPS投与時；IM(40)SP(50)、PB(45)ではほとんど差が認められなかった。得られた結果は例数が少なく個体差が考えられるが、ヒトとニホンザルのNSAIDに対する感受性の差、そして正常時と感染時の差が認められたことは興味深い。

#### 内毒素血症時の骨髓、脾細胞および末梢白血球の組織因子活性

平田陸正(岩手医大・医)

著者らはマウスを用いた実験で、グラム陰性菌の内毒素が骨髓内のマクロファージや顆粒球の組織因子(Tissue factor=TF)活性を高めることを認め、内毒素による播種性血管内血液凝固における骨髓細胞の役割に注目してきた。昭和60～62年まで共同利用研究としてヒトに近縁なニホンザルを用い実験的内毒素血症時における骨髓、脾および血液中の顆粒球系細胞のTF活性について検討した。ニホンザル(2～23才、3～12kg)対照群2頭、E. coli内毒素(1mg/kg, i. v.)投与群7頭の計9頭を用いた。内毒素投与の4または12時間後に麻酔-放血で安楽死を計り、骨髓等の臓器を採取した。TF活性は凝固法と合成基質法とで測定した。

結果①対照群に比べ内毒素投与群5頭の骨髓内顆粒球画分にTF活性の亢進が認められた。凝固法で6～12倍に、合成基質法で6～44倍に高まり両測定法はよく相関した。②脾細胞の顆粒球画分においては内毒素投与群のすべてにTF活性の上昇がみられた。しかし、末梢血より得た顆粒球画分のTF活性は内毒素投与によっても高まらなかった。③ニホンザルの内毒素に対する発熱応答はウサギと比べてかなり弱かった。④骨髓細胞のT

F活性を凝固法で比較すると、投与量やTF活性上昇の程度からみて著者らが従来から行っているマウスと同程度であった。一般にヒトは内毒素に高感受性であるのに比しサル類は感受性が低いといわれている。発熱性や内毒素投与後の内眼所見などからニホンザルは内毒素応答性が低いことが示された。この感受性の違いが何に由来するのかTF活性さらに他のパラメータをも含めて検討することは、内毒素に対する生体防禦作用の機作を知る上で重要なことと考える。〔上記の結果は日本細菌学会（1987年3月）、②日本血栓止血学会（1987年12月）および内毒素に関する国際シンポジウム（アムステルダム、1987年5月）にて発表した。〕

### 課 題 13

#### 霊長類における免疫グロブリンC<sub>ε</sub>・C<sub>α</sub>遺伝子の進化

河村正二（東京大・理）

ヒト上科及びオナガザル上科の免疫グロブリンC<sub>ε</sub>及びC<sub>α</sub>遺伝子の遺伝子構成を分子生物学的方法により明らかにすることにより、点突然変異以外にも遺伝子重複や欠失などの現象が霊長類の進化の過程で生じたことを明らかにすることを目的とした。

オランウータン、テナガザル、そして旧世界ザルの末梢血白血球より高分子DNAを抽出し、C<sub>α</sub>遺伝子座位数を推定するためにヒトC<sub>α</sub>遺伝子を含むDNA断片をプローブとしてサザンハイブリダイゼーション実験を行った。さらにC<sub>ε</sub>遺伝子とC<sub>α</sub>遺伝子の位置関係を明らかにするためにC<sub>ε</sub>遺伝子とC<sub>α</sub>遺伝子をクローニングし制限酵素地図を作製した。

C<sub>α</sub>遺伝子座位数はオランウータン1座位、テナガザル2座位、そして旧世界ザル1座位であった。テナガザルの一方のC<sub>α</sub>遺伝子座位を除いてどのC<sub>α</sub>遺伝子座位もC<sub>ε</sub>1遺伝子と隣接していた。C<sub>ε</sub>遺伝子とC<sub>α</sub>遺伝子を1セットにした重複がヒト、チンパンジー、そしてゴリラには在ることがすでに知られている。このことから、ヒト上科の共通祖先ではC<sub>ε</sub>3を除くC<sub>ε</sub>遺伝子とC<sub>α</sub>

遺伝子は、各1座位ずつであったが、オランウータン分岐後に、ヒト、チンパンジー、そしてゴリラの共通祖先で、C<sub>ε</sub>遺伝子とC<sub>α</sub>遺伝子を組にした重複が生じ、テナガザルではC<sub>α</sub>遺伝子のみの重複が生じたと考えられることができる。しかしテナガザルの2種類のC<sub>α</sub>遺伝子の位置関係やそれらの塩基配列などを明らかにしなければ、これらの重複の生じた時期をはっきりと決めることはできない。

#### ニホンザル主要組織適合性(MHC)領域遺伝子の構造と機能に関する系統発生学的研究

高田 肇（慶大・医）・猪子英俊・安藤麻子（東海大・医）

進化の程度の異なる各種サルを対象として、ヒトMHC（HLA）遺伝子の原型がどの程度保存されているかについて、DNAレベルで系統発生学的立場から、ヒトとの比較解析を行った。

15種25頭のサルより得た各種制限酵素切断染色体DNAについて、HLAクラスⅠ、ⅡおよびⅢ抗原に対応する13種のDNAプローブを用いたサザン法により、検出されたバンドをヒトと比較した。その結果、HLA-C（クラスⅠ）に特異的なDNAをプローブとした場合、ヒトではHLA-Cに対応する一本のバンドのみが、また原猿類ではかすかなバンドが認められたのみであった。しかし、他のサルでは下等なものほど明瞭で、かつ数多くのバンドが観察され、これらのサルではHLA-C類似の遺伝子がよく保存されており、ヒトの場合以上に重要な機能を果たしている可能性が示唆された。クラスⅡをプローブとした場合には、全ての種でDP、DO、DZ（DN）を含む全てのHLA遺伝子に対応する明瞭なバンドが確認された。また、種内での多型性はヒトと同様、α鎖よりもβ鎖に多く認められ、下等な種ほどバンドが増える傾向があった。クラスⅢの場合には進化の程度とよく相関した、種特異的と考えられるバンドパターンが観察され、クラスⅢ遺伝子の進化は、霊長類の種の分化の後に生じたことが示唆された。

そこで、クラスⅡ遺伝子の多型性に対応したバンドパターンから、ニホンザル2家系のハプロク